



## DNA 恒温快速扩增试剂盒（基础型）使用说明书

### 【产品名称】

通用名称：DNA 恒温快速扩增试剂盒（基础型）

### 【包装规格】

货号：EDN-DJ01

规格：48 份/盒

### 【原理概述】

本试剂盒基于一种常温恒温核酸快速扩增技术：在常温恒温下，重组酶和引物形成蛋白/单链核苷酸的复合体 Rec/ssDNA，在辅助蛋白和单链结合蛋白 SSB 的帮助下，侵入双链 DNA 模板；在侵入位点形成 D-loop 区域，并开始对 DNA 双链进行扫描；待找到与引物互补的目的区域后，复合体 Rec/ssDNA 解体的同时，聚合酶也结合到引物的 3' 末端，开始链的延伸。

### 【产品特点】

本试剂盒具有灵敏度高、特异性强、反应时间短（仅需 30 min）等优点，反应组分为干粉状态，操作简便，易于保存。

使用金属浴、水浴锅等即可进行反应操作，无需购买 PCR 仪等价格高昂的设备。

### 【引物设计】

建议使用长度在 30-35 bp 的引物，引物过短会影响扩增速度和检测灵敏度；引物设计避免形成二级结构而影响扩增；扩增子长度建议在 150-300 bp，通常不超过 500 bp。

### 【试剂盒储存】

1. 运输温度：≤ 20 °C 的恒温环境；
2. 储存条件：储存温度 ≤ -20 °C (± 5 °C) 恒温环境，避光保存，避免重压、反复冻融；
3. 产品有效期：14 个月；
4. 生产日期见外包装。

### 【试剂盒组成】

组成	含量
A buffer	1.6 mL×1 管
B buffer	150 μL×1 管
正对照模板	100 μL×1 管
正对照引物 Mix	60 μL×1 管
试剂	48 份
使用说明书	1 份

### 【操作步骤】

提前 30 分钟将试剂盒所需组分取出，室温融化，震荡混匀。

- (1) 每个干粉反应管加入 29.4 μL A buffer（注意：A buffer 需完全融化混匀，否则会对实验效果产生影响）；
- (2) 每个反应管分别加入 2 μL 上游引物和 2 μL 下游引物（引物浓度 10 μM，对于多个反应、步骤 1 和步骤 2 可以混合后再分装至反应管中）；
- (3) 向反应管中依次加入 5 μL 核酸模板和 9.1 μL ddH<sub>2</sub>O（可根据实际需求调整加入模板的体积，并相应调整加入的





ddH<sub>2</sub>O 体积，至模板与 ddH<sub>2</sub>O 总体积为 14.1 μL)；

- (4) 最后向反应管中加入 2.5 μL B buffer 并充分混合（注意：**a. B buffer** 是启动反应的缓冲液，一旦进入体系意味着酶被激活；**b. 请务必上下颠倒甩动反应管 8-10 次进行混匀，涡旋、弹管子等方式可能无法有效混匀；c. 对于多个反应，建议提前将 B buffer 加至反应管的盖子内侧，盖上盖后上下颠倒后混匀，可保证反应同时启动）；**
- (5) 混匀后，将反应液甩（或快速离心）至管子底部，然后尽快将反应管放入恒温设备中 37-39 °C 孵育 30 min；
- (6) 反应结束后，加入 Tris 饱和酚/氯仿/异戊醇（25: 24: 1）抽提液，1:1 混匀抽提反应液，12000 rpm 离心 5 min，取 5 μL 上清进行琼脂糖凝胶电泳检测（琼脂糖凝胶浓度建议为 1.5%-2%）。

注：

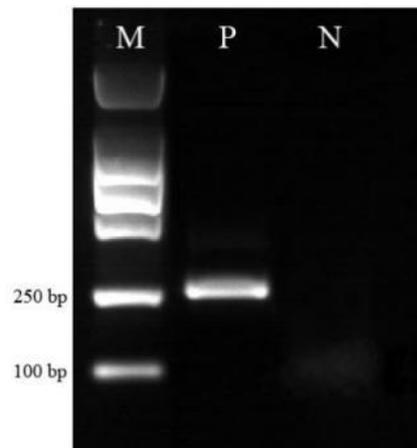
1. 高温变性不能有效去除蛋白，可能对产物分析造成影响；
2. 市场上部分扩增产物纯化试剂盒不适用，可能造成假阴性结果。

体系配制

组分	体积 (μL)
<b>A buffer</b>	29.4
上游引物(10 μM)*	2
下游引物(10 μM)*	2
ddH <sub>2</sub> O 和 DNA 模板	14.1
<b>B buffer</b>	2.5
<b>总体积</b>	<b>50</b>

\*正对照反应单元体系配制：正对照模板加入 2 μL，加入 4 μL 正对照引物 Mix（包含上/下游引物），其他组分参照体系配制。

正对照电泳结果



M: Marker; P: 阳性对照; N: 阴性对照

#### 【注意事项】

1. 由于试剂盒灵敏度非常高，在进行反应时请注意避免核酸污染，并设置空白对照；
2. 使用时请取出实验所需的冻干试剂的数量，剩余部分请置于存储条件下。
3. 使用有效期内试剂，且组分不得与其他批号的相应试剂混用。

